

# تأثیر جیره تک غذایی کنجاله سویا بر تغییرات هیستومورفومتریک مخاط روده کوچک در خروس بالغ



سمیه حامدی<sup>۱\*</sup>، مریم رضائیان<sup>۲</sup>، طهورا شمالی<sup>۳</sup>

۱- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد کرج، دانشکده دامپزشکی، گروه علوم پایه، کرج، ایران

۲- دانشگاه تهران، دانشکده دامپزشکی، گروه علوم پایه، تهران، ایران

۳- دانشگاه شیراز، دانشکده دامپزشکی، گروه علوم پایه، شیراز، ایران

\* نویسنده مسئول: sahar\_hamediyahoo.com

دوره دوم، شماره چهارم، پاییز ۱۳۹۰

صفحات ۲۲۵-۲۳۱

## چکیده

ترکیبات جیره غذایی از عوامل موثر بر مورفولوژی روده می‌باشند که با ایجاد این تغییرات، سبب تغییر در هضم و جذب مواد مغذی می‌شوند. در این پژوهش هیستومورفومتری روده باریک در خروس بالغ در ارتباط با مصرف جیره تک غذایی کنجاله سویا مورد مطالعه قرار گرفته و با تغذیه معمولی مقایسه شد. بدین منظور تعداد ۲۰ قطعه خروس ۷۰ هفته ای ردآیلند رد به ۲ گروه ۱۰ تایی تقسیم و به مدت ۳۰ روز تحت رژیم های کنجاله سویا و جیره پایه قرار گرفتند. افزودن کنجاله سویا در رژیم غذایی گروه اول، به صورت تدریجی به جیره معمولی به مدت یک هفته و سپس ۲۱ روز تغذیه با جیره آزمایشی انجام شد. روده باریک خروس ها پس از کشتار آنها در پایان دوره، بلافاصله از حفره شکمی خارج و در محلول بافر فرمالین ۱۰% پایدار و پس از انجام مراحل معمول در آزمایشگاه بافت شناسی، برش هایی از سه بخش دوازدهه، تهی روده و ایلئوم تهیه و با H&E و PAS رنگ آمیزی و با میکروسکوپ نوری مطالعه شد. طول و عرض کرک ها و عمق کریپت ها با گراتیکول خطی و تعداد سلول های جامی در واحد سطح با گراتیکول ۲۵ خانه اندازه گیری و با روش Student's t-test آنالیز آماری شد. نتایج این تحقیق در خروس های تغذیه شده با کنجاله سویا نسبت به گروه شاهد به صورت افزایش معنی دار در عمق کریپت ها و تعداد سلول های جامی در دوازدهه، افزایش معنی دار طول کرک ها، عمق کریپت ها و تعداد سلول های جامی در واحد سطح تهی روده و در ایلئوم کاهش طول کرک ها و افزایش معنی دار تعداد سلول های جامی بود، هر چند تغییر معنی داری در انرژی قابل متابولیسم مشاهده نشد. نتایج این مطالعه نشان می دهد رژیم تک غذایی کنجاله سویا می تواند به عنوان یک منبع پروتئینی مناسب در جیره خروس بالغ جایگزین شود.

واژه‌های کلیدی: هیستومورفومتری، خروس، روده باریک، کنجاله سویا



JOURNAL OF VETERINARY CLINICAL RESEARCH

J.Vet.Clin.Res 2(4)225-231, 2011

## Effect of Soy bean as a single meal feeding on Histo-morphometric changes of small intestinal mucosa in adult cocks

Hamed, S.<sup>1\*</sup>, Rezaian, M.<sup>2</sup>, Shomali, T.<sup>3</sup>

1. Department of Basic Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Karaj Branch, Islamic Azad University, Karaj, Iran.

2. Department of Basic Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran.

3. School of Veterinary Medicine, Shiraz University, Shiraz, Iran.

\* Corresponding author: sahar\_hamed@yahoo.com

### Abstract

The composition of the diet can influence morphological features of intestines which may lead to changes in digestion and absorption of nutrients. The present study evaluates the histomorphometric changes of small intestine due to soy bean meal single feeding in adult cocks. Twenty, 70-week-old, healthy Road Island Red cockerels were purchased and after a week of adaptation, divided into 2 equal groups and fed either soy bean meal or control diet. Feeding was gradually and by adding the experimental food to the commonly used diet through 16 days and then fed only with experimental diets for 21 days. At the end of second period of treatment, all animals were weighted and sacrificed. Small intestine was removed from the bodies immediately after death; transverse sections were successively cut with 2cm intervals and fixed in 10% buffered formalin. The sections were stained with Hematoxylin-Eosin and PAS, then studied under light microscope. Height and width of villi and depth of crypts were measured by linear graticule. Goblet cell number per unit area was counted by a lattice graticule.

Data were analyzed using Student's t-test. The result showed that, Number of goblet cells and crypt depth of duodenum, as well as villus height and crypt depth and goblet cells number in the jejunum increased significantly, while villus height in the ileum decreased significantly in soy bean fed cocks as compared to control. In conclusion, soy bean meal could be used as a single feed with high protein content for cocks.

**Keywords:** histomorphometry, small intestine, cock, soy bean meal

یافته بودند خریداری شده و به سالن متابولیکی واقع در موسسه علوم دامی کشور انتقال و در قفس های جداگانه قرار داده شدند. پس از گذشت یک هفته دوره عادت پذیری و اطمینان از سلامت ظاهری، خروس ها با استفاده از طرح کاملاً تصادفی به ۲ گروه ۱۰ تایی تغذیه با کنجاله سویا و شاهد تقسیم شده و به مدت ۳۰ روز تحت رژیم آزمایشی قرار داده شدند. تغذیه با کنجاله سویا به صورت تدریجی و با افزودن تدریجی آن به جیره اصلی به نسبت های ۳۰٪، ۴۵٪، ۶۰٪، ۷۵٪ و ۹۰٪ در طی یک هفته، ۲۴ ساعت گرسنگی و سپس ۲۱ روز تغذیه با جیره تک غذایی کنجاله سویا و در پایان ۲۴ ساعت گرسنگی انجام گرفت. در گروه شاهد تغذیه خروس ها با جیره رایج صورت پذیرفت. در پایان دوره خروس ها وزن کشتی و کشتار شدند. لازم به ذکر است که در طی این دوره روزانه ۳ بار فضولات جمع آوری و به فریزر منتقل می شد. مقدار خوراک مصرفی هر یک از خروس ها نیز در طی دوره به طور جداگانه ثبت گردید. همچنین ویسکوزیته فضولات و انرژی قابل متابولیسم نیز اندازه گیری شد.

هیستومورفومتري: بلافاصله پس از کشتار روده باریک خروس ها خارج و در محلول بافر فرمالین به آزمایشگاه بافت شناسی دانشکده دامپزشکی انتقال یافت. پس از پایداری، برای هر یک از سه بخش روده باریک شامل دوازدهه، تهی روده و ایلئوم، سه نمونه یکسان از ابتدا، میان و انتهای هر بخش و هر کدام به ضخامت یک سانتیمتر برداشته شد. سپس مراحل معمول آزمایشگاه بافت شناسی انجام و از قالب های پارافینی برش هایی به ضخامت ۶ میکرومتر تهیه و با H&E و PAS رنگ آمیزی شده و با میکروسکوپ نوری مورد مطالعه قرار گرفتند (تصویر ۱).

در این مطالعه طول و عرض قاعده کرک ها و عمق کریپت ها با گراتیکول خطی و تعداد سلول های جامی در واحد سطح با گراتیکول ۲۵ خانه اندازه گیری شد. برای هر یک از فاکتور های مورد بررسی، از هر نمونه ۱۵ لام و از هر لام

کنجاله سویا که یکی از محصولات فرعی صنعت روغن گیری دانه سویا است؛ پرکاربردترین کنجاله مورد استفاده در تغذیه طیور بوده و به عنوان یک منبع پروتئینی استاندارد برای ارزیابی سایر منابع پروتئین های گیاهی به شمار می رود. امروزه مشخص شده که ترکیبات جیره غذایی از عوامل تاثیرگذار بر مورفولوژی میکروکرک های آنتروسیست ها، طول و عرض کرک ها و عمق کریپت ها میباشند به گونه ای که با تغییر سطح جذب، سبب تغییر در هضم و جذب مواد مغذی میشوند (۴). Sharma و Schumacher در سال ۲۰۰۱ طی پژوهشی بر روی موش های صحرایی و انسان، نشان دادند میزان پروتئین جیره به طور معنیداری بر روی ارتفاع کرکها، عمق کریپت ها، تعداد لئوسیت های اپیتلیالی و اندازه سلول های اپیتلیالی تاثیرگذار است (۵). در پژوهش انجام شده توسط Maenz و همکاران در سال ۱۹۹۱، مشخص شد که دانه سویایی که لکتین آن غیر فعال نشده باشد با اتصال به سطح اپیتلیوم روده، موجب کاهش عمر سلول های پوششی، افزایش عمق کریپت ها و افزایش وزن بافت روده شده و نهایتاً موجب عدم رشد در حیوانات جوان می شود (۳).

با توجه به اهمیت کنجاله سویا به عنوان یک منبع سرشار از پروتئین، شناخت تغییرات بافت شناسی لوله گوارش پرندگان در ارتباط با مصرف این ماده خوراکی و تاثیرات آن در قابلیت هضم و جذب روده ای، می تواند به اصلاح جیره و در نتیجه بالا بردن توان تولیدی طیور کمک نماید. مطالعه حاضر اثرات این کنجاله در طرح جیره تک غذایی مطابق روش سیبالد (۱۹۹۶)، بر هیستومورفومتري روده های کوچک خروس بالغ با در نظر گرفتن ویسکوزیته و انرژی قابل متابولیسم مورد ارزیابی قرار داده شده است (۶).

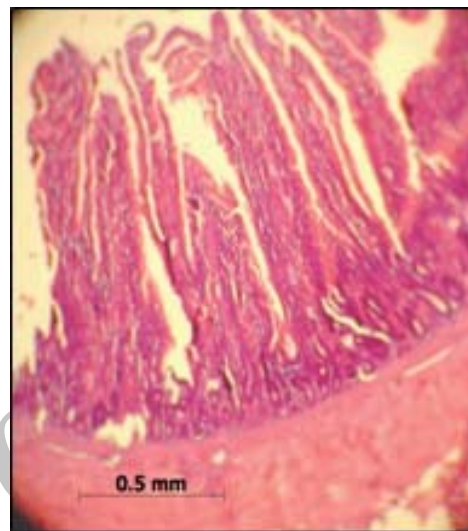
#### مواد و روش کار

طرح آزمون: تعداد ۲۰ قطعه خروس سالم بالغ رد آیلند رد (RIR) با سن ۷۰ هفته که تحت شرایط یکسان پرورش

جدول ۱: ترکیبات جیره غذایی شاهد

ترکیبات	درصد
ذرت	۵۰
گندم	۱۳
سویا	۲۰
جو	۷/۴
ویتامین	۰/۲۵
مواد معدنی	۰/۲۵
دی کلسیم فسفات	۱/۷
نمک	۰/۳
صدف	۷
دی ال- متیونین	۰/۱

۵ شان به طور تصادفی مورد بررسی قرار گرفت. داده های حاصل از آزمایش به روش student's t-test مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت. سطح معنی داری  $p > 0/05$  برای تمامی مقایسه ها در نظر گرفته شد.



تصویر ۱- فتومیکروگراف ژنوژنوم خروس بالغ تحت رژیم غذایی کنجاله سویا، بزرگنمایی ۳/۲

بافت شناسی: نتایج حاصل از ارزیابی هیستولوژیک هر یک از سه بخش روده باریک در گروه تغذیه شده با کنجاله سویا در قیاس با گروه شاهد به شرح زیر است (جدول شماره ۲):

الف- دوازدهه: در این بخش ارتفاع کرک ها و عرض کرک ها بدون تغییر باقی مانده و عمق کریپت ها و تعداد سلول های جامی در واحد سطح افزایش معنی داری نشان داد. ( $p > 0/05$ )

ب- تهی روده: در این بخش طول کرک ها و عمق کریپت ها و تعداد سلول های جامی در واحد سطح افزایش معنی دار یافته بود ( $p > 0/05$ ).

ج- ایلئوم: در این بخش کاهش طول کرک ها به همراه افزایش معنی دار در تعداد سلول های جامی مشاهده شد ( $p > 0/05$ ).

## نتایج

ترکیبات شیمیایی، انرژی قابل متابولیسم و ویسکوزیته میانگین ترکیبات شیمیایی ماده خشک، الیاف خام، پروتئین خام، چربی خام و انرژی قابل متابولیسم (AME) کنجاله سویا به ترتیب ۸۹٪، ۳۰٪، ۴۸/۰٪، ۱/۰٪ و ۲۷۱۲/۶ کیلو کالری بر کیلوگرم می باشد. همچنین میانگین ویسکوزیته فضولات حاصل از مصرف کنجاله سویا در نمونه های مورد آزمایش ۲,۱ cps بود که نسبت به گروه شاهد (۱,۷۱ cps) اختلاف آماری معناداری را نشان داد ولی از نظر انرژی قابل متابولیسم تفاوت آماری بین دو گروه وجود نداشت. ترکیبات جیره غذایی شاهد نیز در جدول شماره ۱ نمایش داده شده است.

## تاثیر جیره تک غذایی کنجاله سویا بر تغییرات هیستومورفومتریک مخاط روده کوچک در خروس بالغ

جدول ۲: پارامترهای هیستومورفومتریک دیواره روده باریک (میانگین  $\pm$  انحراف معیار) درخروس های تیمار و شاهد

پارامتر	دئودنوم		ژئودنوم		ایلئوم	
	کنجاله سویا	شاهد	کنجاله سویا	شاهد	کنجاله سویا	شاهد
طول کرک (میلیتر)	1.10 $\pm$ 0.20	1.06 $\pm$ 0.21	1.11 $\pm$ 0.17	0.79 $\pm$ 0.12	0.72 $\pm$ 0.88	1.04 $\pm$ 0.25
عرض کرک (میلیتر)	0.16 $\pm$ 0.05	0.16 $\pm$ 0.04	0.12 $\pm$ 0.03	0.13 $\pm$ 0.04	0.03 $\pm$ 0.14	0.15 $\pm$ 0.04
عمق کریپت (میلیتر)	0.15 $\pm$ 0.06	0.13 $\pm$ 0.03	0.14 $\pm$ 0.04	0.12 $\pm$ 0.03	0.04 $\pm$ 0.13	0.13 $\pm$ 0.03
تعداد سلول کابلت (میلیتر مربع)	0.01 $\pm$ 0.03	0.02 $\pm$ 0.01	0.04 $\pm$ 0.01	0.02 $\pm$ 0.01	0.01 $\pm$ 0.03	0.02 $\pm$ 0.01

علامت \* در کنار اعداد جدول بیانگر اختلاف معنی دار در هر ردیف می باشد ( $p < 0.05$ )

### بحث و نتیجه گیری

نتایج حاصل از مطالعه حاضر نشان داد که استفاده از جیره تک غذایی کنجاله سویا در خروس های بالغ، منجر به افزایش ویسکوزیته مدفوع و تغییر در ساختار مورفولوژیکی بافت روده کوچک می شود.

همانطور که در قسمت نتایج نیز بیان شد، در جیره آزمایشی کنجاله سویا در دئودنوم خروس های سالم، طول کرک ها عدم تغییر معنی دار و عمق کریپت ها افزایش نشان داد، که در نتیجه آن نسبت طول کرک به عمق کریپت کاهش معنی داری یافت. این نتایج همسو با یافته های Maenz (۱۹۹۱) می باشد (۳). در تهی روده این خروس ها نیز همسو با نتایج Yaghoobfar (۲۰۰۶) و Maenz (۱۹۹۱) افزایش طول و عمق کریپت ها و تعداد سلول های جامی دیده شد (۱۰، ۳). در ایلئوم آنها نیز مشابه نتایج Wu (۲۰۰۴)، کاهش طول کرک ها و افزایش تعداد سلول های جامی مشاهده شد (۹). نسبت طول کرک به عمق کریپت، بیانگر میزان باز گردش سلولی انتروسیست ها و میزان جذب می باشد (۷). کاهش نسبت طول کرک به عمق کریپت، بیانگر افزایش میزان باز گردش انتروسیست ها و کاهش میزان جذب می باشد که در خروس های تغذیه شده با جیره آزمایشی کنجاله سویا این نسبت در دوازدهه کاهش داشت ولی در تهی روده و ایلئوم تغییری نکرده بود؛ این امر ممکن است در عدم ایجاد تغییر در انرژی قابل متابولیسم در این خروس ها موثر باشد.

Wiryawan و Dingle (۱۹۹۷) علت بروز تغییرات

مورفولوژیکی در روده را لکتین سویا می دانند (۸). اما Almirall و همکاران (۱۹۹۵) بیان نمودند که افزودن آنزیم های تجزیه کننده مواد غیر مغذی به جیره غذایی طیور جوان بیشتر از بالغین موثر است، همچنین آنها با مقایسه دو گروه سنی جوان و بالغ، دریافتند که با افزایش ویسکوزیته، قابلیت هضم مواد غذایی در طیور جوان بیشتر دستخوش تغییر می شود (۱). VanLeeuwen و همکاران (۲۰۰۴) بیان داشتند که مورفولوژی لایه مخاطی روده های کوچک جوجه های گوشتی به سن، جیره فرموله شده و فلور باکتریایی بستگی دارد (۷). آنها مورفولوژی لایه مخاطی را در سنین مختلف، جیره های متفاوت (سویا و گندم و گندم همراه با آنزیم) و آلودگی با سالمونلا تیفی موریوم بررسی کردند و متوجه شدند که شکل کرک ها در نواحی مختلف روده باریک تحت تاثیر عوامل فوق، تغییر می کند. از جمله این تغییرات، افزایش کرک های زیگزاکی در تهی روده طیور تغذیه شده با جیره سویا همراه با آنزیم و کاهش آن در روده جوجه های آلوده شده با سالمونلا تیفی موریوم است. Mattlouthi و همکاران در سال ۲۰۰۲ دریافتند که طول و عرض کرک ها و اپیتلیوم سطحی روده باریک جوجه های گوشتی تغذیه شده با جیره چاودار کوتاه تر از جوجه هایی است که با جیره ذرت تغذیه شده اند (۲).

در این مطالعه نیز به نظر می رسد که مطابق نظر Almirall

## References

1. Almirall, M., Francesch, M., Perez- vendrell, A.M., Brufau, J., Esteve- garcia, E.(1995)The differences in intestinal viscosity produced by barley and  $\beta$ - glucanase alter digesta enzyme activities and ileal nutrient digestibilities more in broiler chicks than in cocks. *J. Nutr.*125, 4: 947- 955.
- 2.Mattlouthi, N., Lalles, J. P., Lebersq, P., Juste, C., Larbier, M.(2002) Xylanase&  $\beta$ \_glucanase supplementation improve conjugated bile acid fraction in intestinal content and increase villus size of small intestine wall in broiler chickens fed a rye-based diet. *J. Ani. Sci.* 80: 2773-2779.
3. Maenz,D.D., Geoffery, G., Classen, I.H.L.(1999) Carbohydrate- binding and agglutinating lectins in raw and processed soybean meals. *Ani. Feed. sci. tech.* 76:335-343.
4. Mosleh, N., Shomali, T., Hamedi, S. (2011) Effects of green tea on performance, feed conversion And jejunum (histology) in broilers.*Online.J.Vet.Res.*15 (2): 147-154.
5. Sharma, R., and Schumacher, U. (2001) «Carbohydrate expression in the intestinal mucosa». *Adv. Anat. Embryol. Cell Biol.*160: 1-91.
6. Sibbald, I.R. (1986) The T.M.E. system of feed evaluation: Methodology, Feed composition data and bibliography. *Research Contribution 86-4E.*Ani. Res. Center. Agric. Canada.
7. VanLeeuwen, p., Mouven, J.M.V.M., VanderKlis, J.D., Verstege,M.W.A. (2004) Morphology of the small intestinal mucosal surface of broiler in relation to age, diet formulation, small intestinal microflora and performance, *Br. poult. sci.*45, 1: 41-48.
8. Wiryawan,K., Dingle,J.G.(1997) New vegetable protein for layer ,*University of animal production, Gatton*,43-45.
9. Wu,Y.B., Ravindran,V., Thomas,D.G., Birtles,M.J.,

و VanLeeuwen سن خروس ها باعث شده است که اثر کنجاله سویا بر مورفولوژی روده باریک به حداقل رسیده و با وجود افزایش میزان ویسکوزیته دفعی خروس های تغذیه شده با کنجاله سویا، در نهایت تغذیه با این ماده خوراکی تغییری در انرژی قابل متابولیسم ایجاد نکند بنابراین رژیم تک غذایی کنجاله سویا می تواند به عنوان یک منبع پروتئینی مناسب در جیره خروس بالغ استفاده شود.

Hendriks, W.H. (2004) Influence of whole wheat inclusion and xylanase supplementation on the performance, apparent metabolisable energy, digestive tract measurements and gut morphology of broilers, Br. Poultry Sci. 45: 385-394.

10. Yaghubfar, A., Rezaian, M., Ashrafi\_Helan, J., Barin, H. (2006) the effect of hull less barley dietary on the activity of gut microflora and morphology small intestinal of layer hens, Pakistan. J. Biol. Sci. 4: 659-666.

Archive of SID